

**Implan untuk pembedahan — Kalsium fosfat —
Bagian 3: Hidroksiapatit dan beta-trikalsium fosfat
sebagai pengganti tulang**

***Implants for surgery — Calcium phosphates —
Part 3: Hydroxyapatite and beta tricalcium
phosphate bone substitutes***

(ISO 13175-3:2012, IDT)

Pengguna dari RSNI ini diminta untuk menginformasikan adanya hak paten dalam dokumen ini, bila diketahui, serta memberikan informasi pendukung lainnya (pemilik paten, bagian yang terkena paten, alamat pemberi paten dan lain-lain)

Daftar isi

Daftar isi	i
Prakata	iii
Pendahuluan	iv
1 Ruang lingkup	1
2 Acuan normatif	1
3 Istilah, definisi dan simbol	1
3.1 Istilah dan definisi	1
3.2 Simbol	3
4 Persyaratan	3
4.1 <i>Trace elements</i>	3
4.2 Penentuan kualitatif dan kuantitatif fasa kristalin	4
4.3 Bentuk dan wujud	5
4.4 Porositas	5
4.5 Pelarutan dan perubahan pH	7
4.6 Pengukuran kekuatan mekanik material	7
4.7 Laporan pengujian	12
Bibliografi	13
Tabel 1 – Batas <i>trace element</i> spesifik	3
Gambar 1 — Gambar skema uji indentasi bola	8
Gambar 2 — Gambar skema uji kekuatan tekan	8
Introduction	15
1 Scope	16
2 Normative references	16
3 Terms, definitions and symbols	16
3.1 Terms and definitions	16
3.2 Symbols	18
4 Requirements	18
4.1 <i>Trace elements</i>	18
4.2 Qualitative and quantitative determination of crystalline phases	19
4.3 Form and shape	20
4.4 Porosity	20
4.5 Dissolution and pH change	22

4.6 Measurement of material mechanical strength 22

4.7 Test report..... 27

Bibliography 28

Table 1 — Limits of specific trace elements 18

Figure 1 — Schematic drawing of the sphere indentation test..... 23

Figure 2 — Schematic drawing of the compressive strength test 23

Prakata

Standar Nasional Indonesia (SNI) ISO 13175-3:2012, *Implan untuk pembedahan — Kalsium fosfat — Bagian 3: Hidroksiapatit dan beta-trikalsium fosfat sebagai pengganti tulang* merupakan hasil adopsi identik dari standar ISO 13175-3:2012, *Implants for surgery — Calcium phosphates — Part 3: Hydroxyapatite and beta tricalcium phosphate bone substitutes*, dengan metode adopsi terjemahan dua bahasa dan ditetapkan oleh BSN Tahun 2024.

Standar ini menggantikan SNI ISO 13175-3:2012, *Implan untuk pembedahan - Kalsium fosfat - Bagian 3: Hydroxyapatite dan beta-trikalsium pengganti tulang fosfat*, yang disusun dengan metode adopsi *republication-reprint* dan ditetapkan oleh BSN Tahun 2018.

Standar ini disusun oleh Komite Teknis 11-12 Kedokteran Gigi. Standar ini telah dibahas dalam rapat teknis dan terakhir disepakati dalam rapat konsensus pada tanggal 24 Juli 2024 di Jakarta dengan dihadiri para pemangku kepentingan (*stakeholder*) terkait, yaitu perwakilan dari produsen, konsumen, pakar dan pemerintah.

Terdapat standar yang menjadi acuan normatif dalam Standar ini telah diadopsi menjadi SNI yaitu:

1. ISO 10993-1, *Biological evaluation of medical devices — Part 1: Evaluation and testing within a risk management process*, telah diadopsi secara identik menjadi SNI ISO 10993-1:2015, *Evaluasi biologis alat kesehatan - Bagian 1: Evaluasi dan pengujian dalam proses manajemen risiko (ISO 10993-1:2009, IDT)*

Apabila di kemudian hari pengguna menemukan kesulitan dalam penggunaan standar ini, maka dianjurkan untuk merujuk pada standar aslinya yaitu ISO 13175-3:2012 dan/atau dokumen terkait lain yang menyertainya.

Perlu diperhatikan bahwa kemungkinan beberapa unsur dari Standar ini dapat berupa hak kekayaan intelektual (HAKI). Namun selama proses perumusan SNI, Badan Standardisasi Nasional telah memperhatikan penyelesaian terhadap kemungkinan adanya HAKI terkait substansi SNI. Apabila setelah penetapan SNI masih terdapat permasalahan terkait HAKI, Badan Standardisasi Nasional tidak bertanggung jawab mengenai bukti, validitas, dan ruang lingkup dari HAKI tersebut.

Pendahuluan

Pengganti tulang sintesis hidroksiapatit dan β -trikalsium fosfat kini dianggap sebagai alternatif yang memadai untuk *autograft* dan *allograft*. Telah terbukti bahwa alat kesehatan pengganti tulang sintesis hidroksiapatit dan β -trikalsium fosfat menjamin tidak ada penyakit menular yang akan menginfeksi pasien. Selain itu, hidroksiapatit dan β -trikalsium fosfat telah terbukti bersifat osteokonduktif yang berarti bahwa keduanya akan meningkatkan penyembuhan tulang pada permukaan material jika diimplankan pada lokasi tulang (lihat bibliografi [6] dan [7]). Biokompatibilitas hidroksiapatit dan β -trikalsium fosfat dibuktikan oleh literatur yang luas (lihat bibliografi [8]).

Alat kesehatan pengganti tulang sintesis hidroksiapatit dan β -trikalsium fosfat yang mengacu ke standar ini terdiri dari tiga tipe: pengganti tulang hidroksiapatit monofasik sintetik atau β -trikalsium fosfat dan pengganti tulang hidroksiapatit/ β -trikalsium fosfat bifasik. Rasio hidroksiapatit/ β -trikalsium fosfat mempengaruhi laju pelarutan material: Semakin tinggi kandungan β -trikalsium fosfat, semakin tinggi pula laju pelarutan (lihat bibliografi [9] hingga [11]).

Proses penyembuhan pengganti tulang tidak hanya berkaitan dengan potensi material osteokonduktif, namun juga berkaitan dengan struktur porositas (lihat Referensi [12] hingga [16]). Makroporositas perlu cukup besar dan saling berhubungan agar pertumbuhan tulang ke dalam dapat terjadi di seluruh volume implan. Porositas juga mempunyai pengaruh terhadap laju resorpsi keramik: semakin tinggi jumlah mikroporositas, semakin tinggi laju pelarutan (lihat Referensi [14]).

Karena pengganti tulang tidak dimaksudkan untuk menahan beban berat, sifat mekaniknya tidak penting. Namun, seringkali blok perlu dibentuk ulang oleh ahli bedah agar sesuai dengan bentuk rongga pada tulang. Pengganti tulang harus memiliki sifat mekanik yang cukup untuk dikerjakan dengan mesin.

Implan untuk pembedahan — Kalsium fosfat —Bagian 3: Hidroksiapatit dan beta-trikalsium fosfat sebagai pengganti tulang

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan persyaratan untuk pengganti tulang hidroksiapatit monofasik, pengganti tulang β -trikalsium fosfat monofasik, dan pengganti tulang hidroksiapatit/ β -trikalsium fosfat bifasik dalam bentuk blok atau butiran.

Standar ini tidak berlaku untuk pengisi rongga tulang yang berasal dari sel tulang, semen kalsium fosfat, atau pengisi rongga tulang yang mengandung material selain hidroksiapatit dan β -trikalsium fosfat.

2 Acuan normatif

Standar acuan berikut ini dirujuk ke dalam teks sehingga sebagian atau seluruh isinya merupakan persyaratan dari standar ini. Untuk acuan bertanggal, hanya edisi yang disebutkan yang berlaku. Untuk acuan tidak bertanggal, berlaku standar acuan edisi terakhir tersebut (termasuk setiap amandemen).

ISO 2591-1, *Test sieving — Part 1: Methods using test sieves of woven wire cloth and perforated metal plate*

ISO 10993-1, *Biological evaluation of medical devices — Part 1: Evaluation and testing within a risk management process*

ISO 13320, *Particle size analysis — Laser diffraction methods*¹⁾

ISO 13383-1, *Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) — Microstructural characterization — Part 1: Determination of grain size and size distribution*²⁾

ISO 13779-3, *Implants for surgery — Hydroxyapatite — Part 3: Chemical analysis and characterization of crystallinity and phase purity*

ISO 15901-1, *Pore size distribution and porosity of solid materials by mercury porosimetry and gasadsorption — Part 1: Mercury porosimetry α*

ISO 80000-1, *Quantities and units — Part 1: General*

3 Istilah, definisi dan simbol

3.1 Istilah dan definisi

Untuk keperluan dokumen ini, berlaku istilah dan definisi berikut:

¹⁾ menggantikan ISO 13320-1.

²⁾ akan diterbitkan.

3.1.1

α -trikalsium fosfat

α -TCP

senyawa kimia dengan struktur kristalinografi yang dicirikan oleh ICDD PDF³⁾ 09-0348

catatan 1 untuk entri: Rumus kimianya adalah $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

3.1.2

β -trikalsium fosfat

β -TCP

senyawa kimia dengan struktur kristalinografi yang dicirikan oleh ICDD PDF 09-0169

catatan 1 untuk entri: Rumus kimianya adalah $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

3.1.3

pengganti tulang

alat kesehatan yang dimaksudkan untuk mengisi rongga atau celah tulang yang disebabkan oleh trauma atau pembedahan

3.1.4

hidroksiapatit

HA

senyawa kimia dengan struktur kristalinografi yang dicirikan oleh ICDD PDF 09-0432 atau ICDD PDF 72-1243

catatan 1 untuk entri: Rumus kimianya adalah $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

3.1.5

pori-pori yang saling berhubungan

pori yang terhubung dengan satu atau lebih pori lainnya

3.1.6

makropori

pori dengan salah satu dimensinya lebih besar dari 10 μm

3.1.7

mikropori

pori dengan dimensi tidak lebih besar dari 10 μm

3.1.8

porositas

rasio volume pori total terhadap volume nyata blok atau butiran

3.1.9

tetrakalsium fosfat TTCP

senyawa kimia dengan struktur kristalinografi yang dicirikan oleh ICDD PDF 25-1137 atau ICDD PDF 70-1379

catatan 1 untuk entri: Rumus kimianya adalah $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$.

3.1.10

material osteokonduktif

³⁾ International Centre for Diffraction Data Powder Diffraction File.

material yang mampu berfungsi sebagai kerangka tempat sel-sel tulang yang dapat menempel, bermigrasi (berarti bergerak atau “berpindah”), serta tumbuh dan membelah

catatan 1 untuk entri: Osteokonduktivitas adalah bersifat pasif

3.1.11

kalsium oksida CaO

senyawa kimia dengan struktur kristalinografi yang dicirikan oleh ICDD PDF 4-0777 atau ICDD PDF 82-1690

3.1.12

kepadatan β -trikalsium fosfat

$d_{\beta\text{TCP}}$

kepadatan teoritis β -trikalsium fosfat padat, sama dengan $3,07 \text{ g cm}^{-3}$

3.1.13

kepadatan hidroksiapatit

d_{HA}

kepadatan teoritis hidroksiapatit padat, sama dengan $3,15 \text{ g cm}^{-3}$

3.2 Simbol

d_r kepadatan menyeluruh pengganti tulang sintetis

d_{th} kepadatan teoritis pengganti tulang sintetis

m massa pengganti tulang sintetis

V volume pengganti tulang sintetis

4 Persyaratan

4.1 Trace elements

Batasan *trace element* spesifik untuk pengganti tulang hidroksiapatit dan β -trikalsium fosfat diberikan pada Tabel 1.

Baik spektrometri plasma/emisi atom yang digabungkan secara induktif (ICP/AES), spektroskopi plasma/massa yang digabungkan secara induktif (ICP/MS), spektroskopi serapan atom (AAS), atau metode yang ditentukan dalam ISO 13779-3 harus digunakan untuk mengukur *trace element*. Metode yang digunakan harus ditentukan.

Tabel 1 – Batas *trace element* spesifik

Elemen	Batas maksimum mg/kg
Arsen	3
Kadmium	5
Merkuri	5
Plumbum	30
Logam berat	50

Metode 1 Farmakope Amerika Serikat “Logam berat <231>” harus digunakan untuk mengukur logam berat. Dimungkinkan juga untuk menggunakan salah satu metode yang dijelaskan di atas untuk kuantifikasi unsur *trace element* guna menilai kandungan logam berat dengan mempertimbangkan bahwa jumlah total logam berat adalah jumlah dari unsur-unsur berikut:

plumbum, merkuri, bismut, arsen, antimon, timah, kadmium, perak, tembaga dan molibdenum. Metode yang digunakan harus ditentukan.

Setiap pengotor dengan rasio lebih dari 1.000 mg/kg harus diidentifikasi, diukur dan pengaruhnya terhadap penyembuhan tulang harus dinilai. Pengaruh pengotor ini terhadap biokompatibilitas harus dinilai berdasarkan ISO 10993-1.

Setiap bahan tambahan harus diidentifikasi, diukur dan pengaruhnya terhadap penyembuhan tulang dan biokompatibilitas harus dijustifikasi atau dinilai sesuai dengan ISO 10993-1.

4.2 Penentuan kualitatif dan kuantitatif fasa kristalin

4.2.1 Umum

Komposisi dan kemurnian fasa harus dikontrol berdasarkan kuantifikasi fasa dengan difraksi sinar-X (XRD) sesuai dengan ISO 13779-3.

4.2.2 Pengganti tulang hidroksiapatit monofasik

Fraksi massa hidroksiapatit tidak boleh kurang dari 95% fasa kristalin. Fraksi massa CaO tidak boleh lebih dari 1% fasa kristalin.

Fraksi massa hidroksiapatit dihitung berdasarkan Rumus (1):

$$MF_{HA} = 100\% - MF_{\beta TCP} - MF_{\alpha TCP} - MF_{TTCP} - MF_{CaO} \quad (1)$$

Keterangan:

- MF_{HA} adalah fraksi massa kristalin HA;
- MF_{βTCP} adalah fraksi massa kristalin β-TCP;
- MF_{αTCP} adalah fraksi massa kristalin α-TCP;
- MF_{TTCP} adalah fraksi massa kristalin TTCP;
- MF_{CaO} adalah fraksi massa kristalin CaO.

Fraksi massa suatu fasa harus dianggap nol jika nilainya berada di bawah ambang batas deteksi.

4.2.3 Pengganti tulang bifasik

Rasio antara hidroksiapatit dan β-trikalsium fosfat harus ditentukan dengan toleransi sebesar ± 5% (mutlak) terhadap fraksi massa fasa kristalin.

CONTOH Komposisi 60% HA dan 40% TCP artinya komposisi tersebut dapat (65% HA dan 35% TCP) hingga (55% HA dan 45% TCP).

Penentuan kualitatif fraksi massa fasa kristalin lainnya: jika α-trikalsium fosfat (α-TCP) dapat dideteksi, informasi ini harus dicantumkan dalam laporan.

4.2.4 Pengganti tulang monofasik β -trikalsium fosfat

Fraksi massa β -trikalsium fosfat harus tidak kurang dari 95% fasa kristalin. Fraksi massa β -trikalsium fosfat harus dihitung berdasarkan Rumus (2):

$$MF_{\beta TCP} = 100\% - MF_{HA} \quad (2)$$

Fraksi massa HA harus dianggap nol jika nilainya berada di bawah ambang batas deteksi.

Penentuan kualitatif fasa kristalin lainnya: jika α -trikalsium fosfat (α -TCP) dapat dideteksi, informasi ini harus dicantumkan dalam laporan.

Keberadaan fasa lain harus dinilai dengan spektroskopi inframerah (FTIR) sesuai dengan ISO 13779-3.

4.3 Bentuk dan wujud

Bentuk fisik pengganti tulang (butiran atau blok yang sudah dibentuk sebelumnya) harus dirinci.

Spesifikasi dimensi harus ditentukan untuk semua konfigurasi alat kesehatan sebagai berikut.

— Dimensi blok.

— Dimensi butiran: metode difraksi laser sesuai dengan ISO 13320 atau metode pengayakan sesuai dengan ISO 2591-1 harus digunakan untuk menentukan dimensi butiran. Parameter D10, D50 dan D90 (untuk difraksi laser) atau dimensi minimum dan maksimum (untuk pengayakan) butiran harus ditentukan.

Volume pengganti tulang harus dicantumkan pada kemasan.

4.4 Porositas

4.4.1 Rasio porositas total

Rasio porositas minimum dan maksimum pengganti tulang harus ditentukan. Rasio dihitung berdasarkan Rumus (3):

$$P = 100 - \left(\frac{d_r}{d_{th}} \times 100 \right) \quad (3)$$

Keterangan:

P adalah rasio porositas dalam %.

d_r ditentukan dengan mengukur dimensi dan massa pengganti tulang sejajar yang mempunyai volume minimal 2 cm³. Massa harus diukur dengan timbangan yang mampu menimbang hingga ketelitian 0,02 g dan dimensinya harus diukur dengan jangka sorong yang mampu mengukur hingga ketelitian paling sedikit 0,02 mm. Volume, V, pengganti tulang kemudian dihitung dengan dimensi yang diukur dan d_r kemudian dihitung menurut Rumus (4):

$$d_r = \frac{m}{V} \quad (4)$$

d_{th} dihitung berdasarkan Rumus (5):

$$d_{th} = \frac{\frac{MF_{HA}}{d_{HA}}}{\frac{MF_{HA}}{d_{HA}} + \frac{MF_{\beta TCP}}{d_{\beta TCP}}} \times d_{HAP} + \frac{\frac{MF_{\beta TCP}}{d_{\beta TCP}}}{\frac{MF_{HA}}{d_{HA}} + \frac{MF_{\beta TCP}}{d_{\beta TCP}}} \times d_{\beta TCP} \quad (5)$$

Jika butiran dibuat dengan menghancurkan blok berpori, porositas butiran pada blok harus diukur sebelum dihancurkan dengan metode yang dijelaskan di atas.

Jika tidak, porositas butiran harus diperkirakan dengan porosimetri merkuri.

4.4.2 Ukuran mikropori dan makropori

4.4.2.1 Mikropori

Untuk melakukan pemotongan metalografi pada material, dalam beberapa kasus perlu dilakukan penanaman material ke dalam resin sebelum pemotongan.

Diameter mikropori harus ditentukan. Diameter mikropori ditentukan dengan mengukur diameter mikropori pada suatu bagian material fotomikrograf SEM dengan menerapkan salah satu metode dijelaskan dalam ISO 13383-1 hanya untuk mikropori. Sedangkan pada bagian pori-pori yang saling bersentuhan, tentukan batas fiktif antar pori-pori tersebut.

4.4.2.2 Makropori

4.4.2.2.1 Umum

Diameter makropori harus ditentukan. Karakterisasi dapat dilakukan dengan metode A atau metode B.

4.4.2.2.2 Metode A: SEM

Untuk melakukan pemotongan metalografi pada material, dalam beberapa kasus perlu dilakukan penanaman material ke dalam resin sebelum pemotongan.

Ukur diameter makropori pada bagian material melalui fotomikrograf SEM dengan menerapkan salah satu metode yang dijelaskan dalam ISO 13383-1 hanya pada makropori. Sedangkan pada bagian pori-pori yang saling bersentuhan, tentukan batas fiktif antar pori-pori tersebut.

4.4.2.2.3 Metode B: Analisis CT fokus mikro

Tampilan visual struktur makropori tiga dimensi (bentuk pori, ketebalan dinding, isotropi, homogenitas), makroporositas, dan histogram distribusi diameter pori dapat ditentukan dengan analisis CT fokus mikro. Makroporositas ditentukan dengan mengukur porositas bidang pandang (FOV) dengan diameter 3 mm kali tinggi 1,5 mm dalam analisis tiga dimensi gambaran CT fokus mikro. Nilai rata-rata dan nilai deviasi standar makroporositas beberapa FOV harus dihitung. Histogram diameter pori diperoleh dengan menghitung jumlah pori pada setiap rentang diameter. Resolusi spasial yang disarankan adalah 6 μm /piksel. Ukuran spesimen yang direkomendasikan adalah diameter 5 mm dan tinggi 10 mm.

4.4.3 Interkoneksi

Makropori sebaiknya terbuka dan saling berhubungan. Diameter interkoneksi antar makropori harus ditentukan. Diameter interkoneksi harus ditentukan dengan porosimetri merkuri sesuai dengan ISO 15901-1.

Prinsip dari tindakan ini adalah memberikan tekanan yang cukup tinggi agar mendorong merkuri menembus pori-pori sampel. Tekanan rendah memungkinkan penetrasi pada interkoneksi berdiameter tinggi dan tekanan tinggi memungkinkan penetrasi pada interkoneksi berdiameter rendah. Volume merkuri yang menembus ke dalam sampel seperti halnya dengan volume pori-pori dapat terjadi berkat interkoneksi (yang ukurannya bergantung pada tekanan yang diberikan).

Diameter interkoneksi dari puncak penetrasi merkuri utama harus ditentukan. Volume porositas dengan diameter lebih tinggi dari 5 μm yang dapat diakses melalui interkoneksi harus ditentukan.

Gambar CT fokus mikro termasuk gambar 2 dan/atau 3 dimensi yang direkonstruksi dapat memberikan informasi tambahan tentang interkoneksi makropori, terutama untuk material dengan interkoneksi lebih besar dari 100 μm , ketika porosimetri merkuri terbatas.

Jika toleransi spesifikasi porositas lebih dari $\pm 2\%$ untuk blok, maka pengujian harus dilakukan terhadap sampel dengan porositas lebih rendah dan lebih tinggi.

4.5 Pelarutan dan perubahan pH

Laju pelarutan in vitro pengganti tulang dapat digunakan untuk membandingkan kemampuan berbagai pengganti tulang untuk diserap secara in vivo, bahkan jika mekanisme yang berbeda dari pelarutan akan terjadi secara in vivo. Perubahan pH yang signifikan setelah implantasi dapat mengganggu osteokonduksi pada permukaan pengganti tulang. Tujuan dari pengujian berikut ini adalah untuk mengukur laju pelarutan in vitro dari pengganti tulang dan perubahan pH media pelarutan.

Pelarutan dan kelarutan alat kesehatan pengganti tulang sintetis hidroksiapatit dan β -trikalsium fosfat harus diuji. Tiga sampel pengganti tulang harus dimasukkan ke dalam tiga labu larutan buffer TRIS pada pH ($7,3 \pm 0,1$) pada (37 ± 1) $^{\circ}\text{C}$. Ketiga labu larutan tersebut ditempatkan pada pelat pengaduk dengan kecepatan putaran 200 rpm selama 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Laju pelarutan harus diukur pada kondisi rasio konstan antara massa material awal terhadap total volume media pelarutan. Rasio massa material uji terhadap volume media pelarutan harus antara 0,1 dan 4,0 mg/ml.

Nilai pH diukur setelah perendaman selama 0 jam, 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Nilai pH tidak boleh berbeda lebih dari 0,3 dari nilai awal selama pengujian.

Kandungan kalsium dalam larutan harus dianalisis dengan ICP/AES atau AAS atau ICP/MS, atau secara potensiometri dengan *ion probe*. Kurva konsentrasi versus waktu harus ditentukan.

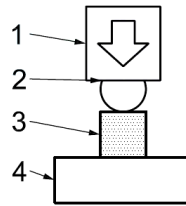
4.6 Pengukuran kekuatan mekanik material

4.6.1 Umum

Kekuatan mekanik material pengganti tulang dalam bentuk blok harus dinilai dengan uji indentasi bola (lihat Gambar 1) dan/atau uji kekuatan tekan (lihat Gambar 2).

Untuk material dengan porositas tinggi (porositas total $\geq 40\%$), kekuatan mekanik pengganti tulang harus dinilai dengan uji indentasi bola.

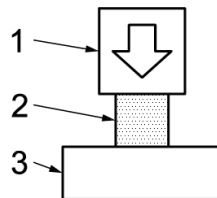
Penggunaan uji kekuatan tekan dapat diterima sebagai ganti uji indentasi untuk material dengan porositas tinggi, namun uji indentasi bola terbukti lebih sering digunakan dalam uji *round robin* untuk material dengan porositas tinggi.



Keterangan:

- 1 piston
- 2 bola
- 3 spesimen
- 4 tumpuan

Gambar 1 — Gambar skema uji indentasi bola



Keterangan:

- 1 piston
- 2 spesimen
- 3 tumpuan

Gambar 2 — Gambar skema uji kekuatan tekan

Untuk material dengan porositas rendah (<40%), kekuatan mekanik alat kesehatan pengganti tulang harus dinilai dengan uji kekuatan tekan.

4.6.2 Peralatan, pengambilan sampel dan spesimen

4.6.2.1 Peralatan

4.6.2.1.1 Mesin uji

Mesin uji harus dikonstruksi sedemikian rupa sehingga tegangan tekan dapat diterapkan pada spesimen dengan kecepatan *crosshead* yang konstan. Mesin uji harus dilengkapi dengan peralatan yang mencatat beban dengan akurasi 1% dari beban maksimum.

4.6.2.1.2 Bola (*sphere*)

Bola baja dengan diameter 9,52 mm harus digunakan sebagai *indenter*.

4.6.2.1.3 Piston

Untuk uji kekuatan tekan, piston yang memberikan gaya pada spesimen harus terbuat dari baja yang mempunyai kekerasan 300 HV atau lebih tinggi (30 HRC atau lebih tinggi).

Ketebalan piston harus minimal 10 mm, dan luas permukaan atas piston minimal empat kali luas penampang spesimen. Nilai kekasaran permukaan (R_a) kontak piston dengan spesimen paling tinggi 0,40 μm , dan kesejajaran paling besar 0,01 mm.

Untuk uji indentasi bola, piston harus didesain sedemikian rupa sehingga bola berada di tengah sumbu piston.

4.6.2.1.4 Tumpuan

Tumpuan yang ditempatkan di bawah spesimen harus terbuat dari baja yang mempunyai kekerasan 300 HV atau lebih tinggi (30 HRC atau lebih tinggi). Ketebalan tumpuan harus paling sedikit 10 mm, dan luas permukaan atas tumpuan paling sedikit empat kali luas penampang spesimen. Kekasaran R_a pada permukaan tumpuan yang bersentuhan dengan spesimen paling tinggi 0,40 μm , dan kesejajarannya paling besar 0,01 mm.

4.6.2.2 Prosedur

4.6.2.2.1 Umum

Jika toleransi spesifikasi porositas lebih dari $\pm 2\%$, kekuatan tekan harus diukur pada sampel dengan porositas lebih rendah dan lebih tinggi.

4.6.2.2.2 Metode perendaman

Larutan garam dengan bufer fosfat bebas kalsium dan magnesium [PBS(-)] harus digunakan sebagai larutan perendaman.

Spesimen dideaerasi dengan pompa vakum ke dalam wadah yang sesuai yang ditempatkan pada ruang vakum dan PBS(-) dimasukkan ke dalam wadah spesimen. Jumlah PBS(-) harus paling sedikit 10 kali lebih besar dari volume nyata spesimen. Tingkat vakum standar adalah (2 hingga 3) 10^3 Pa. Waktu perendaman adalah (24 \pm 1) jam dan suhu (25 \pm 3) °C. Kelembapan spesimen harus dihilangkan sebelum pengujian.

Selain itu, pengujian dapat dilakukan dalam kondisi kering.

4.6.2.2.3 Penempatan spesimen dan metode pembebanan

Spesimen diposisikan di tengah tumpuan. Sumbu tengah tumpuan, spesimen, bola, dan piston satu sumbu dengan garis beban.

Kecepatan *cross head* harus (0,50 \pm 0,05) mm/menit.

Nilai beban harus dicatat dari awal pengujian hingga patahnya spesimen.

Untuk uji indentasi bola, ukuran indentasi pada spesimen harus lebih kecil dari diameter silinder atau panjang horizontal dan panjang vertikal kubus.

Untuk uji kekuatan tekan, gaya diterapkan pada permukaan berukuran 10 mm x 10 mm jika menggunakan spesimen berbentuk persegi panjang (lihat 4.6.2.4.1).

4.6.2.2.4 Penggunaan kembali piston, tumpuan dan bola

Ketika piston, tumpuan dan bola digunakan kembali, harus diperiksa bahwa tidak ada lekukan atau cacat pada bidang kontak. Jika terdapat lekukan atau cacat pada bidang kontak dan tidak dapat dihilangkan, komponen tersebut tidak dapat digunakan kembali.

4.6.2.3 Uji indentasi berbentuk bola

4.6.2.3.1 Pengambilan sampel dan spesimen

Jumlah sampel minimal harus 10 spesimen.

Bentuk dan ukuran spesimen biasanya harus berbentuk silinder. Dimensi standar spesimen silinder harus berdiameter $(10,0 \pm 0,1)$ mm dan tinggi $(10,0 \pm 0,1)$ mm. Namun spesimen juga dapat berupa kubus dengan standar tepi $(10,0 \pm 0,1)$ mm. Kesejajaran antara permukaan atas dan bawah spesimen tidak boleh lebih besar dari 0,1 mm. Bentuk persegi antara permukaan atas dan bawah serta permukaan samping spesimen tidak boleh lebih besar dari 0,1 mm.

Diameter atau diagonal alas persegi spesimen harus lebih panjang dari 10 kali diameter porositas terbesar spesimen. Apabila dimensinya berbeda dari standar, maka harus dinyatakan dalam laporan.

4.6.2.3.2 Hasil pengujian

Untuk uji indentasi bola, kurva beban versus perpindahan harus digambarkan dari awal pengujian hingga patahnya spesimen. Beban maksimum dan perpindahan pada beban maksimum dari masing-masing kurva beban versus perpindahan harus dicatat.

Beban maksimum, P_{Si} , harus merupakan besarnya beban bola untuk menghasilkan indentasi. Nilai rata-rata dan nilai variasi standar besar beban bola untuk indentasi, harus dihitung menurut rumus (6) dan (7) dan dibulatkan ke atas.

$$\bar{P}_S = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n P_{Si} \quad (6)$$

$$SD_S = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(\bar{P}_S - P_{Si})^2}{n-1}} \quad (7)$$

Keterangan:

P_S adalah beban tekan rata-rata (N);

P_{Si} adalah beban indentasi tiap spesimen (N);

SD_S adalah simpangan baku beban tekan (N);

n adalah jumlah spesimen.

4.6.2.4 Uji kuat tekan

4.6.2.4.1 Pengambilan sampel dan spesimen

Jumlah sampel harus minimal 10 spesimen.

Spesimen harus berbentuk silinder, diameter $(10,0 \pm 0,1)$ mm dan tinggi $(15,0 \pm 0,1)$ mm. Namun, spesimen juga dapat berbentuk persegi panjang $(10,0 \pm 0,1)$ mm, lebar $(10,0 \pm 0,1)$ mm dan tinggi $(15,0 \pm 0,1)$ mm. Kesejajaran antara permukaan atas dan bawah tidak boleh

lebih besar dari 0,1 mm. Kesejajaran antara permukaan atas dan bawah dan kesejajaran permukaan samping tidak boleh lebih besar dari 0,1 mm.

Diameter atau diagonal alas persegi spesimen harus lebih panjang dari 10 kali diameter porositas terbesar spesimen. Apabila dimensi berbeda dari standar, maka harus dinyatakan dalam laporan.

4.6.2.4.2 Hasil pengujian

Untuk uji kuat tekan, kurva beban versus kurva perpindahan harus digambarkan dari awal pengujian hingga patahnya spesimen. Beban maksimum dari setiap kurva beban versus kurva perpindahan harus dicatat.

Beban maksimum, P_{Ci} , harus digunakan untuk menghitung kekuatan tekan, menurut Rumus (8).

$$\sigma_{Ci} = \frac{P_{Ci}}{A_i} \quad (8)$$

Keterangan:

σ_{Ci} adalah kuat tekan spesimen i (Pa);

P_{Ci} adalah beban maksimum pada setiap pengujian (N);

A_i adalah luas permukaan tekan tiap spesimen (m²).

A_i dihitung menurut Rumus (9) untuk spesimen berbentuk silinder

$$A_i = \frac{\pi \times \delta_i^2}{4} \quad (9)$$

Keterangan:

δ_i adalah diameter setiap spesimen (m);

atau menurut Rumus (10) untuk spesimen berbentuk persegi panjang

$$A_i = a_i^2 \quad (10)$$

Keterangan:

a_i adalah bagian tepi alas persegi setiap spesimen (m).

Nilai rata-rata dan variasi standar kekuatan tekan harus dihitung berdasarkan Rumus (11) dan (12) dan harus dibulatkan ke atas sesuai dengan ISO 80000-1.

$$\bar{\sigma}_c = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \sigma_{Ci} \quad (11)$$

$$SD_c = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(\bar{\sigma}_c - \sigma_{Ci})^2}{n-1}} \quad (12)$$

Keterangan:

σ_c adalah kekuatan tekan rata-rata (Pa);

SD_c adalah simpangan baku kekuatan tekan (Pa);

n adalah jumlah spesimen

4.7 Laporan pengujian

Laporan pengujian harus dibuat untuk setiap pengujian atau kelompok pengujian dan harus mencakup informasi berikut:

- a) metode pengujian;
- b) acuan spesimen (nama, acuan, bentuk fisik spesimen, dimensi bila ada, nomor lot);
- c) jumlah spesimen yang digunakan untuk setiap pengujian;
- d) acuan dan kalibrasi alat uji;
- e) nama dan sertifikasi laboratorium penguji;
- f) hasil mentah (*raw result*);
- g) metode perhitungan yang digunakan;
- h) hasil akhir dan toleransi;
- i) ketika metode pengujian alternatif diperbolehkan dalam standar ini, sebutkan metode pengujian alternatif mana yang telah digunakan;
- j) persiapan alat uji;
- k) karakteristik komponen yang digunakan bersama dengan peralatan pengujian (misalnya ukuran alat yang digunakan untuk porosimetri merkuri, material piston, bola dan tumpuan untuk pengujian mekanis);
- l) pemasok dan nomor lot bahan habis pakai yang digunakan selama pengujian (misalnya PBS, larutan bufer); segala penyimpangan terhadap metode yang dijelaskan dalam bagian ISO 13175 ini.

Bibliografi

- [1] ISO 5961: 1995, *Water quality — determination of cadmium- Flame atomic absorption spectrometric methods*
- [2] ISO 8288: 1986, *Water quality — Determination of cobalt, nickel, copper, zinc, cadmium and lead — Flame atomic absorption spectrometric method*
- [3] ISO 13485, *Medical devices — Quality management systems — Requirements for regulatory purposes*
- [4] ICDD cards 9-432, 9-348, 9-169, 25-1137, 37-1497, 9-80, 9-77, 14-1475, 5-586 X-ray diffraction standards for hydroxyapatite, α -tri-calcium orthophosphate, β -tri-calcium orthophosphate, tetra-calcium phosphate, calcium oxide, monetite, brushite, aragonite, calcite
- [5] ASTM F 1185: 2003, *Standard Specification for Composition of Hydroxylapatite for Surgical Implants*
- [6] ASTM F 1088-04a, *Standard Specification for Beta-Tricalcium Phosphate for Surgical Implantation*
- [7] European Pharmacopoeia 5.0: Tribasic calcium phosphate
- [8] DACULSI G. et al. Spongious and Cortical bone substitution kinetics at the expense of the macroporous biphasic calcium phosphate: animal and human evidence. *Bioceramics*. 1999, 12 pp. 287–290
- [8] RANSFORD A.O. et al. *Synthetic porous ceramic compared with autograft in scoliosis surgery*, The journal of Bone and Joint Surgery (Br), 80-B, n°1, 1998, pp 13-18
- [9] DACULSI G. et al. Current state of the art of biphasic calcium phosphate bioceramics. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2003, 14 pp. 195–200
- [10] Ducheyne P. et al. The effect of calcium phosphate ceramic composition and structure on in vivo behaviour. I. Dissolution. *J. Biomed. Mater. Res.* 1993, 27 pp. 25–34
- [11] DACULSI G. et al. Transformation of biphasic calcium phosphate ceramics in vivo: Ultrastructural and physicochemical characterization. *J. Biomed. Mater. Res.* 1989, 23 pp. 883–894
- [12] RAYNAUD S. et al. Calcium phosphate apatities with variable Ca/P atomic ratio. III. Mechanicals properties and degradation in solution of hot pressed ceramics. *Biomaterials*. •••, 23 (4) pp. 1081–1089
- [13] GAUTIER O. et al. Macroporous biphasic calcium phosphate ceramics: influence of macropore diameter and macroporosity percentage on bone ingrowth. *Biomaterials*. 1998, 19 pp. 133–139
- [14] Lu J.X. et al. Role of the interconnections in porous bioceramics on bone recolonization in vitro and in vivo. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 1999, 10 pp. 111–120
- [15] LIU D.-M. Influence of porous microarchitecture on the in-vitro dissolution and biological

behaviour of porous calcium phosphate ceramics. *Mater. Sci. Forum.* 1997, 250 pp. 183–208

- [16] Bignon A. *Optimisation de la structure poreuse d'implants en phosphate de calcium pour application de comblement osseux et relargage in situ d'un principe actif*, Thesis, 2002
- [17] Bignon A. et al. Effect of micro and macroporosity of bone substitutes on their mechanical properties and cellular response. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2003, 14 pp. 1089–1097
- [18] USP Heavy metals <231> Method 1

Introduction

Hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate synthetic bone substitutes are now considered as an adequate alternative to autografts and allografts. Indeed, the synthetic origin of these devices guarantees that no transmittable disease will contaminate the patient. Moreover, hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate have been shown to be osteoconductive which means that they will promote bone healing at the surface of the material if implanted in a bone site (see References [6] and [7]). Biocompatibility of hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate is demonstrated by extensive literature (see Reference [8]).

The devices referred to in this part of ISO 13175 are of three types: synthetic monophasic hydroxyapatite or β -tricalcium phosphate bone substitutes and biphasic hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate bone substitutes. The hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate ratio influence the dissolution rate of the material: the higher the β -tricalcium phosphate content, the higher the dissolution rate (see References [9] to [11]).

The healing process into the bone substitutes is not only related to the material osteoconductive potential, it is also related to the porosity structure (see References [12] to [16]). It is necessary that macroporosities are large enough and interconnected for bone ingrowth to take place into the whole volume of the implant. Porosities have also an influence on the resorption rate of the ceramic: the higher the number of microporosities, the higher the dissolution rate (see Reference [14]).

As bone substitutes are not intended for bearing heavy loads, their mechanical properties are not essential. However, most of the time blocks have to be reshaped by the surgeon to fit the shape of the bone cavity. The bone substitute shall have sufficient mechanical properties to be machined.

***Implants for surgery — Calcium phosphates —
Part 3: Hydroxyapatite and beta tricalcium phosphate bone substitutes***

1 Scope

This part of ISO 13175 specifies requirements for monophasic hydroxyapatite bone substitutes, monophasic β -tricalcium phosphate bone substitutes and biphasic hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate bone substitutes in the form of blocks or granules.

This part of ISO 13175 is not applicable to cell-seeded bone void fillers, calcium phosphate cements or bone void fillers containing materials other than hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate.

2 Normative references

The following referenced documents are indispensable for the application of this document. For dated references, only the edition cited applies. For undated references, the latest edition of the referenced document (including any amendments) applies.

ISO 2591-1, Test sieving — Part 1: Methods using test sieves of woven wire cloth and perforated metal plate

ISO 10993-1, Biological evaluation of medical devices — Part 1: Evaluation and testing within a risk management process

ISO 13320, Particle size analysis — Laser diffraction method¹

ISO 13383-1, Fine ceramics (advanced ceramics, advanced technical ceramics) — Microstructural characterization — Part 1: Determination of grain size and size distribution

ISO 13779-3, Implants for surgery — Hydroxyapatite — Part 3: Chemical analysis and characterization of crystallinity and phase purity

ISO 15901-1, Pore size distribution and porosity of solid materials by mercury porosimetry and gas adsorption — Part 1: Mercury porosimetry

ISO 80000-1, Quantities and units — Part 1: General

3 Terms, definitions and symbols

3.1 Terms and definitions

For the purposes of this document, the following terms and definitions apply.

3.1.1

α tricalcium phosphate

α -TCP

chemical compound with a crystallographic structure characterized by ICDD PDF³⁾ 09-0348

³⁾ International Centre for Diffraction Data Powder Diffraction File.

NOTE 1 to entry The chemical formula is $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

3.1.2

β tricalcium phosphate

β -TCP

chemical compound with a crystallographic structure characterized by ICDD PDF 09-0169

NOTE 1 to entry The chemical formula is $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

3.1.3

bone substitute

device intended to fill bony voids or gaps caused by trauma or surgery

3.1.4

hydroxyapatite

HA

chemical compound with a crystallographic structure characterized by ICDD PDF 09-0432 or ICDD PDF 72-1243

NOTE 1 to entry The chemical formula is $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

3.1.5

interconnected pore

pore which communicates with one or more other pores

3.1.6

macropore

pore with one of its dimensions larger than $10\ \mu\text{m}$

3.1.7

micropore

pore with no dimension larger than $10\ \mu\text{m}$

3.1.8

porosity

ratio of total pore volume to apparent volume of the block or granule

3.1.9

tetracalcium phosphate

TTCP

chemical compound with a crystallographic structure characterized by ICDD PDF 25-1137 or ICDD PDF 70-1379

NOTE 1 to entry The chemical formula is $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$.

3.1.10

osteoconductive material

material with the ability to serve as a scaffold on which bone cells can attach, migrate (meaning move or "crawl"), and grow and divide

NOTE 1 to entry Osteoconductivity is a passive property.

3.1.11
calcium oxide
CaO

chemical compound with a crystallographic structure characterized by ICDD PDF 4-0777 or ICDD PDF 82-1690

3.1.12
 β -tricalcium phosphate density
d β TCP

theoretical density of dense β -tricalcium phosphate, equal to 3,07 g cm⁻³

3.1.13
hydroxyapatite density
dHA

theoretical density of dense hydroxyapatite, equal to 3,15 g cm⁻³

3.2 Symbols

dr	bulk density of the synthetic bone substitute
dth	theoretical density of the synthetic bone substitute
m	mass of the synthetic bone substitute
V	volume of the synthetic bone substitute

4 Requirements

4.1 Trace elements

The limits of specific trace elements for hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate bone substitutes are given in Table 1.

Either inductively coupled plasma/atomic emission spectrometry (ICP/AES), inductively coupled plasma/mass spectroscopy (ICP/MS), atomic absorption spectroscopy (AAS), or the method specified in ISO 13779-3 shall be used to quantify trace elements. The method used shall be specified.

Table 1 — Limits of specific trace elements

Element	Maximum limit mg/kg
Arsenic	3
Cadmium	5
Mercury	5
Lead	30
Heavy metals	50

Method 1 of the United States Pharmacopeia “Heavy metals <231>” should be used to quantify heavy metals. It is also possible to use one of the methods described above for the quantification of trace elements to assess the heavy metal content by considering that the total amount of heavy metals is the sum of the following elements: lead, mercury, bismuth, arsenic, antimony, tin, cadmium, silver, copper and molybdenum. The method used shall be specified.

Any impurity with a ratio of more than 1 000 mg/kg shall be identified, quantified and its influence on bone healing shall be assessed. The influence of this impurity on biocompatibility shall be assessed according to ISO 10993-1.

Any additional additive shall be identified, quantified and its influence on bone healing and biocompatibility shall be justified or assessed in accordance with ISO 10993-1.

4.2 Qualitative and quantitative determination of crystalline phases

4.2.1 General

Composition and phase purity shall be controlled by the quantification of the phases by X-ray diffraction (XRD) in accordance with ISO 13779-3.

4.2.2 Hydroxyapatite monophasic bone substitutes

Hydroxyapatite mass fraction shall be not less than 95 % of the crystalline phases. The CaO mass fraction shall be not more than 1 % of the crystalline phases.

Hydroxyapatite mass fraction is calculated according to Formula (1):

$$MF_{HA} = 100\% - MF_{\beta TCP} - MF_{\alpha TCP} - MF_{TTCP} - MF_{CaO} \quad (1)$$

Where

MF_{HA} is the mass fraction of crystalline HA;

$MF_{\beta TCP}$ is the mass fraction of crystalline β -TCP;

$MF_{\alpha TCP}$ is the mass fraction of crystalline α -TCP;

MF_{TTCP} is the mass fraction of crystalline TTCP;

MF_{CaO} is the mass fraction of crystalline CaO.

The mass fraction of any phase shall be considered as zero if its value is under the detection threshold.

4.2.3 Biphasic bone substitutes

The ratio between hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate shall be specified with a tolerance of $\pm 5\%$ (absolute) of the mass fraction of crystalline phases.

EXAMPLE A composition of 60 % HA and 40 % TCP means that the composition can be (65 % HA and 35 % TCP) to (55 % HA and 45 % TCP).

Qualitative determination of the mass fraction of other crystalline phases: if α -tricalcium phosphate (α -TCP) can be detected, this information shall be indicated on the report.

4.2.4 β -tricalcium phosphate monophasic bone substitutes

The β -tricalcium phosphate mass fraction shall be not less than 95 % of the crystalline phases.

The β -tricalcium phosphate mass fraction shall be calculated according to Formula (2):

$$MF_{\beta TCP} = 100\% - MF_{HA} \quad (2)$$

The mass fraction of HA shall be considered as zero if its value is under the detection threshold.

Qualitative determination of other crystalline phases: if α -tricalcium phosphate (α -TCP) can be detected, this information shall be indicated on the report.

The presence of other phases shall be assessed by infrared spectroscopy (FTIR) in accordance with ISO 13779-3.

4.3 Form and shape

The physical form of the bone substitute (granules or pre-formed block) shall be specified.

Dimensional specifications shall be given for all device configurations as follows.

- Dimensions for the blocks.
- Dimensions of granulates: the laser diffraction method in accordance with ISO 13320 or sieving method in accordance with ISO 2591-1 shall be used to determine granule dimensions. Parameters D10, D50 and D90 (for laser diffraction) or minimum and maximum dimensions (for sieving) of the granules shall be specified.

The volume of the bone substitute shall be specified on the packaging.

4.4 Porosity

4.4.1 Total porosity ratio

The minimum and maximum porosity ratio of the bone substitute shall be specified. It shall be calculated according to Formula (3):

$$P = 100 - \left(\frac{d_r}{d_{th}} \cdot 100 \right) \quad (3)$$

Where

P is the porosity ratio in %.

d_r shall be determined by measuring the dimensions and the mass of a parallelepiped bone substitute having a minimum volume of 2 cm³. The mass shall be measured with a balance capable of weighing to an accuracy of 0,02 g and the dimensions shall be measured with a vernier calliper capable of measuring to an accuracy of at least 0,02 mm. The volume, V , of the bone substitute shall then be calculated with the measured dimensions and d_r shall then be calculated according to Formula (4):

$$d_r = \frac{m}{V} \quad (4)$$

d_{th} shall be calculated according to Formula (5):

$$d_{th} = \frac{\frac{MF_{HA}}{d_{HA}}}{\frac{MF_{HA}}{d_{HA}} + \frac{MF_{\beta TCP}}{d_{\beta TCP}}} \cdot d_{HAP} + \frac{\frac{MF_{\beta TCP}}{d_{\beta TCP}}}{\frac{MF_{HA}}{d_{HA}} + \frac{MF_{\beta TCP}}{d_{\beta TCP}}} \cdot d_{\beta TCP} \quad (5)$$

If the granules are manufactured by crushing porous blocks, the porosity of granules should be measured on the blocks before crushing by the method described above.

Otherwise, the porosity of granules should be estimated by mercury porosimetry.

4.4.2 Size of micropores and macropores

4.4.2.1 Micropores

To perform the metallographic cuts of the material, it can be necessary in some cases to perform an embedding of the material in a resin before cutting.

The diameter of micropores shall be specified. It shall be determined by measuring the diameter of micropores on SEM photomicrographs of a section of the material by applying one of the methods described in ISO 13383-1 to micropores only. As for the part where pores are touching each other, draw a fictive boundary between the pores.

4.4.2.2 Macropores

4.4.2.2.1 General

The diameter of macropores shall be specified. The characterization can be performed either by method A or method B.

4.4.2.2.2 Method A: SEM

To perform the metallographic cuts of the material, it can be necessary in some cases to perform an embedding of the material in a resin before cutting.

Measure the diameter of macropores on SEM photomicrographs of a section of the material by applying one of the methods described in ISO 13383-1 to macropores only. As for the part where pores are touching each other, draw a fictive boundary between the pores.

4.4.2.2.3 Method B: Micro-focus CT analysis

Visual display of three-dimensional macroporous structure (pore shape, wall thickness, isotropy, homogeneity), macroporosity, and the distribution histogram of pore diameter can be determined by micro-focus CT analysis. The macroporosity shall be determined by measuring porosity of a field of view (FOV) of 3 mm in diameter by 1,5 mm in height in three-dimensional analysis of the micro-focus CT images. Average and standard deviation of the macroporosity of several FOVs shall be calculated. The pore diameter histogram shall be obtained by counting the number of the pores of each diameter range. Recommended spatial resolution is 6 µm/pixel. Recommended specimen size is 5 mm in diameter and 10 mm in height.

4.4.3 Interconnections

Macropores should be mainly opened and interconnected. Interconnections diameter between macropores shall be specified. It shall be determined by mercury porosimetry in accordance

with ISO 15901-1.

The principle of this measure is to force mercury penetrating in the pores of the sample by applying a pressure more or less high. Low pressure allows penetration in high diameter interconnections and high pressure allows penetration in low diameter interconnections. The mercury volume that penetrated inside of the sample then corresponds to the volume of pores that can be reached thanks to interconnections (which size depends on the applied pressure).

The diameter of the interconnections of the main mercury penetration peak shall be determined. The volume of porosity accessible through interconnections with diameter higher than 5 μm shall be determined.

Micro-focus CT images including reconstructed 2- and/or 3-dimensional images could provide supplemental information about interconnection of macropores, especially for material with interconnections larger than 100 μm , when mercury porosimetry is limited.

if the tolerance for specifications on porosity is more than $\pm 2\%$ for blocks, the test shall be conducted on samples with the lower and the higher porosity.

4.5 Dissolution and pH change

The in vitro dissolution rate of bone substitute can be used to compare the ability of different bone substitutes to resorb in vivo, even if mechanisms different from dissolution will occur in vivo. Significant pH change after implantation can impair osteoconduction at the surface of the bone substitute. The aim of the following tests is to measure the in vitro dissolution rate of bone substitutes and pH change of the dissolution medium.

Dissolution and solubility of the device shall be tested. Three samples of bone substitute shall be introduced in three flasks of TRIS buffer solution at pH ($7,3 \pm 0,1$) at (37 ± 1) $^{\circ}\text{C}$. The three solution flasks shall be placed on a plate agitator with a rotation speed of 200 rpm for 24 h, 48 h and 72 h respectively. The dissolution rate shall be measured under the conditions of a constant ratio of initial material mass to total dissolution media volume. The ratio of test material mass to dissolution media volume shall be between 0,1 and 4,0 mg/ml.

pH shall be measured after 0 h, 24 h, 48 h and 72 h of immersion. pH shall not vary by more than 0,3 from the initial value during testing.

Calcium content of the solutions shall be analysed by ICP/AES or AAS or ICP/MS, or potentiometrically with an ion probe. The concentrations versus time curve shall be determined.

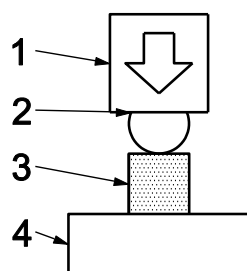
4.6 Measurement of material mechanical strength

4.6.1 General

Mechanical strength of the bone substitute in the form of blocks shall be assessed by a sphere indentation test (see Figure 1) and/or compressive strength test (see Figure 2).

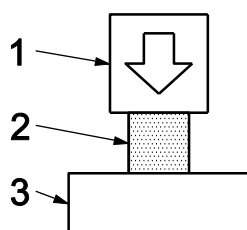
For high porosity materials (total porosity $\geq 40\%$), the mechanical strength of the bone substitute shall be assessed by a spherical indentation test.

It is acceptable to use the compressive strength test instead of an indentation test for high porosity materials but the spherical indentation test was shown to be more reproducible in a round robin test for high porosity materials.

**Key**

- 1 piston
- 2 sphere
- 3 test specimen
- 4 pedestal

Figure 1 — Schematic drawing of the sphere indentation test

**Key**

- 1 piston
- 2 test specimen
- 3 pedestal

Figure 2 — Schematic drawing of the compressive strength test

For low porosity materials (<40%), the mechanical strength of the bone substitute shall be assessed by a compressive strength test.

4.6.2 Apparatus, sampling and specimen

4.6.2.1 Apparatus

4.6.2.1.1 Test machine

A test machine shall be constructed so that compressive stress can be applied to a test specimen at a constant crosshead speed. The test machine shall be equipped with an apparatus recording the load with an accuracy of 1% of the maximum load.

4.6.2.1.2 Sphere

A steel sphere with 9,52 mm diameter shall be used as an indenter.

4.6.2.1.3 Piston

For the compressive strength test, the piston applying the force to the specimen shall be made of steel having hardness 300 HV or higher (30 HRC or higher). The thickness of the piston shall be at least 10 mm, and the upper surface area of the piston is at least four times the specimen cross section area. The Ra roughness of the surface of the piston contacting with the specimen shall be at most 0,40 μm , and the parallelism shall be at most 0,01 mm.

For the spherical indentation test, the piston shall be designed so that the sphere is centred in the axis of the piston.

4.6.2.1.3 Pedestal

A pedestal placed below the specimen shall be made of steel having hardness 300 HV or higher (30 HRC or higher). The thickness of the pedestal shall be at least 10 mm, and the upper surface area of the pedestal is at least four times the specimen cross section area. The Ra roughness of the surface of the pedestal contacting with the specimen shall be at most 0,40 μm , and the parallelism shall be at most 0,01 mm.

4.6.2.2 Procedure

4.6.2.2.1 General

If the tolerance for specifications on porosity is more than $\pm 2\%$, compressive strength shall be measured on samples with the lower and the higher porosity.

4.6.2.2.2 Soaking method

Calcium and magnesium free phosphate buffered saline [PBS(-)] shall be used as a soaking solution.

The specimen is deaerated by vacuum pump into an appropriate container placed on the vacuum chamber and PBS(-) is introduced into the specimen container. The amount of PBS(-) shall be at least 10 times greater than the apparent volume of the specimen. The standard degree of vacuum is (2 to 3) 103 Pa. The soaking time is (24 ± 1) h and temperature is $(25 \pm 3)^\circ\text{C}$. The moisture of the test specimen is wiped before the test.

In addition, the tests can be carried out under dry conditions.

4.6.2.2.3 Specimen positioning and loading method

The specimen is positioned at the centre of the pedestal. The central axis of the pedestal, specimen, sphere and piston are aligned along the load line.

The cross head speed shall be $(0,50 \pm 0,05)$ mm/min.

Load shall be recorded from the start of the test to the specimen fracture.

For the spherical indentation test, the size of indentation on the specimen shall be smaller than the diameter of the cylinder or the horizontal length and vertical length of the cube.

For the compressive strength test, the force is applied on the 10 mm x 10 mm surface if a rectangle parallelepiped is used (see 4.6.2.4.1).

4.6.2.2.4 Reuse of piston, pedestal and sphere

When the piston, pedestal and sphere are reused, it shall be checked that there are no dimples or flaws on the contact plane. If dimples or flaws exist on the contact plane and cannot be removed, the parts may not be reused.

4.6.2.3 Spherical indentation test

4.6.2.3.1 Sampling and specimen

The sample size shall be at least 10 specimens.

The shape and size of a test specimen shall usually be a right circular cylinder. The standard dimension of a cylinder specimen shall be $(10,0 \pm 0,1)$ mm in diameter and $(10,0 \pm 0,1)$ mm in height. However, the test specimen may also be a cube with standard edge dimensions of $(10,0 \pm 0,1)$ mm. The parallelism between the upper and lower surfaces of the specimen shall be not greater than 0,1 mm. The squareness between the upper and lower surfaces and side surface of the specimen shall be not greater than 0,1 mm.

The diameter or the square base diagonal of the test specimen shall be longer than 10 times the diameter of the biggest porosity of the specimen. When the dimensions are different from the standard one, they shall be stated in a report.

4.6.2.3.2 Test results

For the sphere indentation test, the load versus displacement curve shall be drawn from the start of the test to the fracture of the test specimen. The maximum load and the displacement at the maximum load from each load versus displacement curve shall be recorded.

The maximum load, P_{Si} , shall be the strength of the sphere indentation. The mean value and the standard variation of the strength of the sphere indentation shall be calculated according to Formulae (6) and (7) and shall be rounded off to significant figures.

$$\bar{P}_S = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n P_{Si} \quad (6)$$

$$SD_S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{P}_S - P_{Si})^2}{n-1}} \quad (7)$$

where

\bar{P}_S is the mean compressive load (N);

P_{Si} is the indentation load of each specimen (N);

SD_S is the standard deviation of the compressive load (N);

n is the number of specimens.

4.6.2.4 Compressive strength test

4.6.2.4.1 Sampling and specimen

The sample size shall be at least 10 specimens.

The test specimen shall usually be a right circular cylinder, $(10,0 \pm 0,1)$ mm in diameter and $(15,0 \pm 0,1)$ mm high. However, the specimen may also be a rectangular base squared parallelepiped with standard dimensions $(10,0 \pm 0,1)$ mm in length, $(10,0 \pm 0,1)$ mm in width, and $(15,0 \pm 0,1)$ mm in height. The parallelism between the upper and lower surfaces of the specimen shall be not greater than 0,1 mm. The squareness between the upper and lower surfaces and side surface of the specimen shall be not greater than 0,1 mm.

The diameter or the square base diagonal of the test specimen shall be longer than 10 times the diameter of the biggest porosity of the specimen. When the dimensions are different from the standard one, they shall be stated in a report.

4.6.2.4.1 Test results

For the compressive strength test, the load versus displacement curve shall be drawn from the start of the test to the fracture of the test specimen. The maximum load from each load versus displacement curve shall be recorded.

The maximum load, P_{Ci} , shall be used for calculation of the compressive strength, according to Formula (8).

$$\sigma_{Ci} = \frac{P_{Ci}}{A_i} \quad (8)$$

where

σ_{Ci} is the compressive strength of the i-specimen (Pa);

P_{Ci} is the maximum load in each test (N);

A_i is the compressive area of each specimen (m²).

A_i is calculated according to Formula (9) for cylindrical specimens

$$A_i = \frac{\pi \cdot \delta_i^2}{4} \quad (9)$$

where

δ_i is the diameter of each test specimen (m);

or according to Formula (10) for parallelepiped specimens

$$A_i = a_i^2 \quad (10)$$

where

a_i is the edge of the square base of each test specimen (m).

The mean value and the standard variation of the compressive strength shall be calculated according to Formulae (11) and (12) and shall be rounded off to significant figures in accordance with ISO 80000-1.

$$\bar{\sigma}_c = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \sigma_{ci} \quad (11)$$

$$SD_c = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(\bar{\sigma}_c - \sigma_{ci})^2}{n-1}} \quad (12)$$

where

$\bar{\sigma}_c$ is the mean compressive strength (Pa);

SD_c is the standard deviation of compressive strength (Pa);

n is the number of specimens.

4.7 Test report

A test report shall be made for each test or group of tests and shall include the following information:

- a) test method;
- b) references of the test specimens (name, reference, physical form of the specimen, dimensions when applicable, lot number);
- c) number of specimens used for each test;
- d) references and calibration of the testing apparatus;
- e) name and certifications of the testing laboratory;
- f) raw results;
- g) calculation methods used;
- h) final results and tolerances;
- i) when alternative test methods are permitted in this part of ISO 13175, a statement of which test method has been used;
- j) testing apparatus settings;
- k) characteristics of the components used in combination with the testing apparatus (e.g. size of the cells used for mercury porosimetry, material of the piston, sphere and pedestal for mechanical tests);
- l) supplier and lot number of the consumable used during the tests (e.g. PBS, buffer solution); any deviations to the methods described in this part of ISO 13175.

Bibliography

- [1] ISO 5961:1995, Water quality — determination of cadmium- Flame atomic absorption spectrometric methods
- [2] ISO 8288:1986, Water quality — Determination of cobalt, nickel, copper, zinc, cadmium and lead — Flame atomic absorption spectrometric method
- [3] ISO 13485, Medical devices — Quality management systems — Requirements for regulatory purposes
- [4] ICDD cards 9-432, 9-348, 9-169, 25-1137, 37-1497, 9-80, 9-77, 14-1475, 5-586 X-ray diffraction standards for hydroxyapatite, α -tri-calcium orthophosphate, β -tri-calcium orthophosphate, tetra-calcium phosphate, calcium oxide, monetite, brushite, aragonite, calcite
- [5] ASTM F 1185:2003, Standard Specification for Composition of Hydroxylapatite for Surgical Implants
- [6] ASTM F 1088-04a, Standard Specification for Beta-Tricalcium Phosphate for Surgical Implantation
- [7] European Pharmacopoeia 5.0: Tribasic calcium phosphate
- [8] DACULSI G. et al. Spongious and Cortical bone substitution kinetics at the expense of the macroporous biphasic calcium phosphate: animal and human evidence. *Bioceramics*. 1999, 12 pp. 287–290
- [9] A.O. Ransford et al., Synthetic porous ceramic compared with autograft in scoliosis surgery, *The journal of Bone and Joint Surgery (Br)*, 80-B, n°1, 1998, pp 13-18
- [10] DACULSI G. et al. Current state of the art of biphasic calcium phosphate bioceramics. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2003, 14 pp. 195–200
- [11] DUCHEYNE P. et al. The effect of calcium phosphate ceramic composition and structure on in vivo behaviour. I. Dissolution. *J. Biomed. Mater. Res.* 1993, 27 pp. 25–34
- [12] DACULSI G. et al. Transformation of biphasic calcium phosphate ceramics in vivo: Ultrastructural and physicochemical characterization. *J. Biomed. Mater. Res.* 1989, 23 pp. 883–894
- [13] RAYNAUD S. et al. Calcium phosphate apatities with variable Ca/P atomic ratio. III. Mechanicals properties and degradation in solution of hot pressed ceramics. *Biomaterials*. •••, 23 (4) pp. 1081–1089
- [14] GAUTIER O. et al. Macroporous biphasic calcium phosphate ceramics: influence of macropore diameter and macroporosity percentage on bone ingrowth. *Biomaterials*. 1998, 19 pp. 133–139
- [15] LU J.X. et al. Role of the interconnections in porous bioceramics on bone recolonization in vitro and in vivo. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 1999, 10 pp. 111–120
- [16] LIU D.-M. Influence of porous microarchitecture on the in-vitro dissolution and biological behaviour of porous calcium phosphate ceramics. *Mater. Sci. Forum.* 1997, 250 pp. 183–208

- [17] BIGNON A. Optimisation de la structure poreuse d'implants en phosphate de calcium pour application de comblement osseux et relargage in situ d'un principe actif, Thesis, 2002
- [18] BIGNON A. et al. Effect of micro and macroporosity of bone substitutes on their mechanical properties and cellular response. J. Mater. Sci. Mater. Med. 2003, 14 pp. 1089–1097
- [19] USP Heavy metals <231> Method 1

Informasi perumus SNI

(1) Komite Teknis Perumusan SNI

Komite Teknis 11-12, Kedokteran Gigi

(2) Susunan keanggotaan Komite Teknis Perumusan SNI

Ketua : Yosi Kusuma Eriwati
Wakil Ketua : Beluh Mabasa Ginting
Sekretaris : Mulad Aribowo
Anggota : Zulia Hasratiningsih
Rian Adhi Saputra
January Dwidasa Winiyoga
Andi Erwanto
Wiwin Oktawinata
Ririn Sulistiyanti Fitri
Elin Karlina
Doddy Soemawinata
Siti Triaminingsih

(3) Konseptor rancangan SNI

Gugus Kerja Komtek 11-12, Kedokteran Gigi

(4) Sekretariat pengelola Komite Teknis Perumusan SNI

Direktorat Pengembangan Standar Agro, Kimia, Kesehatan, dan Penilaian Kesesuaian
Deputi Bidang Pengembangan Standar
Badan Standardisasi Nasional